



TITLE:

Fetal mesenchymal stem cells ameliorate acute lung injury in a rat cardiopulmonary bypass model( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Taki, Tomofumi

---

CITATION:

Taki, Tomofumi. Fetal mesenchymal stem cells ameliorate acute lung injury in a rat cardiopulmonary bypass model. 京都大学, 2017, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2017-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20250>

RIGHT:

京都大学	博士（医学）	氏名	瀧 智史
論文題目	Fetal mesenchymal stem cells ameliorate acute lung injury in a rat cardiopulmonary bypass model (ラット人工心肺モデルにおける卵膜由来間葉系幹細胞の投与は急性肺障害を改善する)		
(論文内容の要旨)			
<p>人工心肺(CPB)を用いた心臓手術後の強い全身炎症は、種々の臓器障害を招くことが知られており、その原因の一つが高サイトカイン血症とされている。特に全身炎症に伴う急性肺障害は、一旦発症すると未だに高い死亡率につながり、有効な治療法がないのが現状である。CPBに関連した急性肺障害に対する幹細胞を用いた治療研究は未だ乏しい。</p> <p>間葉系幹細胞(MSC; mesenchymal stem cell)は再生医療において胚性幹細胞(ES細胞)、人工多能性幹細胞(iPS細胞)と並ぶ、有望な多能性幹細胞である。MSCは自己複製能を有し、骨細胞、軟骨細胞、脂肪細胞系統への多様な分化能を持つことから、組織再生療法への応用が期待されている。発見当初は骨髄から分離されたが、その後の研究で脂肪や卵膜(FM)により豊富に存在することが分かり、その倫理的ハードルの低さ、安定供給性の面、増殖効率の良さ、免疫寛容の点などから、臨床応用に向けた細胞移植ソースとして期待されている。さらに他家卵膜由来間葉系幹細胞(FM-MSC)移植は、その抗炎症効果、免疫調節効果によりラット心筋炎、腎炎モデルにおいて臓器保護に働くことが証明されてきた。</p> <p>本研究はラット CPB モデルを用いて、他家 FM-MSC 移植による全身炎症ならびに肺障害の抑制効果を検討することを目的とした。</p> <p>まず、ラット CPB モデルを確立させた。プライミング量が 11.2ml の人工心肺回路を独自に作成した。右頸静脈から右心房へ挿入した多孔性カニューレより脱血し、人工肺にて酸素化した血液を左大腿動脈より送血した。Lewis ラットを Sham 群（カニューレーションのみ）、Control 群（CPB のみ）、MSC 群（CPB + FM-MSC 移植）の 3 群に分け、CPB は 50ml/kg/min の flow で 30 分間維持した。MSC 群は、Lewis ラットと MHC ハプロタイプの異なる ACI ラット由来 FM-MSC を CPB 開始直前に <math>1 \times 10^6</math> 個、経静脈的に移植した。</p> <p>その結果、CPB 終了後 1 時間の時点で Control 群では炎症性サイトカイン値 (TNF-<math>\alpha</math>, IL-6, IL-1<math>\beta</math>) の増加を認めたが、FM-MSC の投与により、TNF-<math>\alpha</math>, IL-6 は有意に減少した。また、摘出肺から抽出した mRNA では、FM-MSC 移植にて TNF-<math>\alpha</math>, IL-6, IL-1<math>\beta</math> の発現が有意に抑制された。これらの結果から、ラット CPB モデルにて全身および肺に強い炎症が惹起されたが、FM-MSC 移植によってその炎症反応が軽減できることが示唆された。</p> <p>次に、摘出肺の病理組織学的検討を行った。間質浮腫、出血、好中球浸潤、無気肺、壊死をスコア化して総合点にて判定したところ、CPB によって組織学的に</p>			

生じた肺障害が、FM-MSC 移植によって抑制されることが確認できた。なかでも、間質浮腫を含めた肺胞形態異常と間質への好中球浸潤が定量評価にて有意に抑制されていた。
最後に、MSC 群の摘出肺において KGF および TGF- $\beta$ の mRNA 発現が有意に増加していることを確認した。KGF は肺胞上皮細胞の増殖因子とされて急性肺障害時の修復に関与するとされる。また TGF- $\beta$ は抗炎症作用を持ち、組織修復に関与する増殖因子とされている。FM-MSC 移植がこれらの因子の発現を促進し、肺障害の抑制に関与したと示唆された。
以上から、FM-MSC 移植は人工心肺使用に伴う全身炎症ならびに肺障害を抑制でき、CPB を用いた心臓手術後の成績の向上にとって有望であると考えられた。
(論文審査の結果の要旨)
人工心肺(CPB)を用いた心臓手術後の全身炎症による急性肺障害は、一旦発症すると高い死亡率につながる。間葉系幹細胞(MSC)は再生医療において有望な幹細胞ソースであり、胎盤の一部である卵膜に由来する卵膜由来間葉系幹細胞(FM-MSC)は、その使用における倫理的ハードルの低さ・炎症抑制効果・免疫寛容などの点から、全身炎症性疾患に対する治療応用に向けた有望な移植細胞ソースとして期待されている。
本研究はラット CPB モデルを用いて、他家卵膜由来間葉系幹細胞(FM-MSC)投与による全身炎症ならびに肺障害の抑制効果を検討することを目的とした。Lewis ラットを用いて、ラット CPB モデルを確立した。MHC ハプロタイプの異なる ACI ラットの FM-MSC を CPB 開始直前に $1 \times 10^6$ 個、経静脈的に投与したところ、CPB 後の血清中炎症性サイトカイン濃度および肺における炎症性サイトカイン遺伝子発現は非投与群と比較して有意に低値であった。摘出肺の病理組織学的検討では、FM-MSC 投与による肺障害抑制が示された。また FM-MSC 投与群における摘出肺において、肺保護作用を有する KGF および TGF- $\beta$ 1 の遺伝子発現が非投与群と比較して有意に高値であった。
以上の研究結果は CPB 使用に関連する急性肺障害に対する新しい治療法の開発につながるものであり、心臓手術後の合併症の軽減に大きく寄与するものと考え
したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。
なお、本学位授与申請者は、平成 29 年 2 月 6 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。
要旨公開可能日： 年 月 日以降